Aus der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. H. D. Waller

Histologische und biochemische Untersuchungen über die Beeinflussung der "Galaktosaminhepatitis" bei Ratten durch Hunger, Xantinol-Nicotinat und Äthylalkohol.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Christa Reinecke geb. Jope
aus Reutlingen

1974

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546528_0089

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. H. D. Waller

Histologische und biochemische Untersuchungen über die Beeinflussung der "Galaktosaminhepatitis" bei Ratten durch Hunger, Xantinol-Nicotinat und Äthylalkohol.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Christa Reinecke geb. Jope
aus Reutlingen

1974

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Prof. Dr. E. Körber
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. H.-F. von Oldershausen (Prof. Dr. W. Dölle)
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. A. Kossel

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Fragestellung

1.1. Experimentelle Möglichkeiten zur Erzeugung einer Leberschädigung bei Laboratoriumstieren 1

1.2. Zum Begriff der Enzyminduktion 2

1.3. Fragestellung der eigenen Untersuchungen 4

2. Methodik 5

3. Histologische und biochemische Untersuchungen bei der "Galaktosaminhepatitis" nach Hungerinduktion

3.1. Histologische Veränderungen 7

3.2. Veränderungen der Aminotransferasen (GOT und GPT) im Serum 8

3.3. Veränderungen der Aminotransferasen und der Serindehydratase im Leberhomogenat 10

3.4. Statistische Auswertung der Befunde 16

4. Untersuchungen über die Beeinflussung der "Galaktosaminhepatitis" durch Xantinol-Nicotinat

4.1. Histologische Befunde und biochemische Veränderungen bei einmaliger Galaktosamingabe 17

4.2. Histologische Befunde und biochemische Veränderungen bei langfristiger Galaktosaminverabreichung 19

4.3. Histologische Befunde und biochemische Veränderungen nach Absetzen von Galaktosamin 20

5. Untersuchungen über die Beeinflussung der "Galaktosaminhepatitis" durch Äthylalkohol

5.1. Biochemische Veränderungen nach gleichzeitiger Verabreichung von Galaktosamin und niedrigen Alkoholdosen 30

5.2. Histologische Befunde und biochemische Veränderungen nach gleichzeitiger Verabreichung von Galaktosamin und hohen Alkoholdosen 30

6. Diskussion der Ergebnisse 33

7. Zusammenfassung 37

8. Tabellen 38

9. Literaturverzeichnis 46

1. Einleitung und Fragestellung

1.1. Experimentelle Möglichkeiten zur Erzeugung einer Leberschädigung bei Laboratoriumstieren

Bekanntlich bestehen Schwierigkeiten, experimentell beim Tier einen Leberschaden zu erzeugen, der der Virushepatitis beim Menschen entspricht. Bis jetzt konnte kein Hepatitsvirus beim Menschen isoliert werden. Die Übertragung einer Virushepatitis gelingt nicht, da die Tiere gegenüber dem infektiösen Serum resistent sind (8). In zwei von fünf Fällen glückte die Übertragung lediglich auf Seidenäffchen (7). Doch sind Hepatitisviren, die beim Menschen nicht vorkommen, in größerer Zahl unter anderem bei verschiedenen Mäusen, Hunden und Affen isoliert worden.
Sie haben wahrscheinlich den gleichen Infektionsweg wie die Hepatitisviren des Menschen und erzeugen oft ähnliche histologische Veränderungen: herdförmige Nekrosen, entzündliche Infiltration und Hyperplasie der v. Kupffer'schen Sternzellen. Elektronenmikroskopisch lassen sich Veränderungen nachweisen, die auch bei der humanen Virushepatitis angetroffen werden, wie die Erweiterung des endoplasmatischen Retikulums und ein Anschwellen der Mitochondrien. Der Verlauf der Mäusehapatitis hängt u.a. von den Eigenschaften des Virus ab, die sich während der Versuchsdauer ändern können (27).

Im Tierexperiment hat man deswegen zur Erzeugung von Leberveränderungen- vor allem auch bei pharmakologischen Fragestellungen- Tetrachlorkohlenstoff verwendet, dessen toxische Wirkung auf die Leber schon lange bekannt ist. Dabei treten lichtmikroskopisch als charakterische Veränderungen Massennekrosen und Verfettung, besonders im Bereich der Zentralvenen, auf (5). Elektronenmikroskopisch hat man Veränderungen am endoplasmatischen Retikulum und an den Mitochondrien festgestellt (3). Daraus erklärt sich die Abnahme des Ribonukleinsäure- und Desoxyribonukleinsäuregehaltes und damit die Gesamtverminderung der Proteinsynthese. Tetrachlorkohlenstoff führt außerdem zu einem Glykogenschwund in der Leber (3).
Die durch Tetrachlorkohlenstoff erzeugten Veränderungen sind gut reproduzierbar. Das Ausmaß der Schädigung hängt von der Ein-

wirkungsdauer des verabreichten Tetrachlorkohlenstoffs ab. Eine vollständige Normalisierung der Leberveränderungen wurde nach Absetzen des Tetrachlorkohlenstoffes gefunden (3). Dagegen kann man durch weitere Tetrachlorkohlenstoffzufuhr eine Leberzirrhose auslösen (10).

Als Modell zur Erzeugung hapatitisähnlicher Erscheinungen ist Tetrachlorkohlenstoff jedoch nicht geeignet. Dagegen kommen die Veränderungen, die man mitGalaktosamin hervorrufen kann, diesen Anforderungen recht nahe. Denn lichtmikroskopisch wurden entzündliche Infiltrate in den Periportalfeldern, Gallengangswucherungen, Herdnekrosen und erweiterte v. Kupffer' sche Sternzellen gefunden (19). Im Serum wird ein Anstieg der Aminotransferasen beobachtet (22). Elektronenmikroskopisch lassen sich allerdings Veränderungen nachweisen, die bei einer Virushepatitis nicht oder in wesentlich geringerem Ausmaß angetroffen werden, wie eine starke Vermehrung des glatten endoplasmatischen Retikulums und eine Verminderung der Ribosomen. Veränderungen an den Mitochondrien kommen bei der durch Galaktosamin hervorgerufenen Leberentzündung gehäuft vor im Gegensatz zur Virushepatitis (25). Der Begriff der Hepatitis ist daher für die durch Galaktosamin hervorgerufene Entzündung nur mit Einschränkung anwendbar. Dennoch werden in den folgenden Untersuchungen die nach täglicher Verabreichung von Galaktosamin (in wechselnder Dosierung über einen verschieden langen Zeitraum)auftretenden Leberveränderungen als "Galaktosaminhepatitis" bezeichnet. Als experimentelles Modell ist die durch Galaktosamin erzeugte Leberentzündung wegen der Ähnlichkeit mit den Veränderungen der Virushepatitiden beim Menschen und ihrer guten Reproduzierbarkeit besonders geeignet. Zudem können durch Variation der Dosis und Applikationsdauer von Galaktosamin verschiedene Stadien erzeugt werden, die den Erscheinungen einer akuten Hepatitis bis hin zu einer Leberzirrhose beim Menschen entsprechen (31). Auch nach schwerer Leberschädigung wurde eine völlige Restitution beobachtet (23).

1.2. Zum Begriff der Enzyminduktion

Ein Teil der Glukoneogenese in der Leber wird aus glukoplastischen Aminosäuren gedeckt. Von diesen liefern Asparaginsäure, Alanin und Serin als wichtige Vorstufen Oxalacetat bzw. Pyruvat.

Die Enzyme, die diese Reaktionen katalysieren, sind die -Ketoglutarat-aspartat-Aminotransferase (E.C.2.6.1.1.), die -Ketoglutarat-alanin-Aminotransferase (E.C.2.6.1.2.) und die Serindehydratase (E.C.4.2.1.13.). Es konnte gezeigt werden, daß durch Hungern die Stoffwechsellage in Richtung der Gluconeogenese verschoben werden kann. Dabei kommt es zu einer Induktion der Aminotransferasen und der Serindehydratase in der Leber (39). Die Enzyminduktion ist ein Adaptionsmechanismus, der bei Mikroorganismen wie bei höheren Tieren vorhanden ist und in einer vermehrten selektiven Enzymsynthese besteht, Dies wird besonders deutlich am Beispiel der durch Hunger ausgelösten Induktionsvorgänge. Trotz des Eiweißmangels und des allgemeinen Abbaus von Aminosäuren kommt es zu einem selektiven Anstieg derjenigen Enzyme, die Aminosäuren in den Intermediärstoffwechsel einschleusen, wie der Aminotransferasen und der Serindehydratase.

Die Enzyminduktion stellt eine Antwort auf verschiedene Stimuli dar, die ihren Ursprung außerhalb der Zelle haben. Bei dem Indunktionsvorgang wird durch die in der Desoxyribonukleinsäure des Zellkerns gespeicherte Information die Synthese der Enzymproteine veranlaßt (2). Über Messenger-Ribonukleinsäure, Ribosomen, endoplasmatisches Retikulum ,Transfer-Ribonukleinsäure, Aktivatoren und Aminosäuren werden die Proteine neu gebildet. Möglicherweise vermittelt eine Wechselwirkung zwischen einem enzymbildenden System und den Lipoproteinmembranen des endoplasmatischen Retikulums die Induktion (26). Anhaltspunkte für molekulare Wechselwirkungen zwischen Transfer-Ribonukleinsäure und einem Messenger-Ribonucleinsäure-Ribosomenkomplex wurden bei Bakterien gefunden (41). Die Neusynthese derartiger Proteine kann mit energiereicher Strahlung und mit Aktinomycin D gehemmt werden, jedoch nur in der Zeit, in der die Synthese von Messenger-Ribonukleinsäure stattfindet. Danach tritt keine Hemmung mehr ein (40).

Auf welche Weise in Stimulus zur Induktion auf die Zelle übertragen wird, ist ungeklärt. Als Stimuli kommen pharmakologische (29), hormonale (11, 42) und diätetische Veränderungen in Frage. So werden durch Cortison Schlüsselenzyme der Glukoneogenese und Enzyme glukoplastischer Aminosäuren induziert. Den Harnstoffzyklus regulierende Aminosäuren weisen beim Menschen und bei der Ratte signifikant veränderte Aktivitäten auf in Abhän-

gigkeit vom Eiweißgehalt der Nahrung (36,37). Die Verfütterung einer hochprozentigen eiweißhaltigen Diät vermehrt die Aktivität der Alanin-Aminotransferase in der Rattenleber (32).

1.3. Fragestellung der eigenen Untersuchungen

Es sollte nun geprüft werden, wie weit eine Beeinträchtigung der durch Hunger ausgelösten Enzyminduktion der Leberenzyme durch die mit Galaktosamin erzeugten Leberveränderungen erfolgt. Ob beim Menschen und vor allem beim Hepatitiskranken ähnliche Vorgänge ablaufen, kann durch klinische Beobachtungen nicht geklärt werden, sodaß Analogieschlüsse nur aus dem Tierexperiment möglich sind.

Die Pathogenese der Hepatitis ist bis jetzt nicht sicher geklärt. Infolgedessen ist eine kausale Therapie nicht möglich. Auch stehen derzeit keine spezifischen Mittel gegen diejenigen Viren zur Verfügung, die als Erreger der Krankheit angesehen werden (35). Im Verlauf einer chronischen Hepatitis kann es zu einer Fibroblastenreaktionen und einem Leberumbau kommen, der zunächst reversibel ist (28). Mit dem Fortschreiten des Leberumbaus wird die Leberdurchblutung vermindert.

Das Medikament Metabolan^{R}, als dessen Indikationen chronische Hepatitis, chronische Hepatitis mit zirrhotischem Umbau, Fettleber und toxische Leberparenchymschäden angegeben sind, enthält neben Vitaminen (3 mg Vit. B_2, 4 mg Vit. B_6-hydrochlorid, 0,5 mg Biotin, 20 Vit. B_{12}-Cyanokomplex auf 10 ml Lösung) Komplamin (Xantinol-Nicotinat), eine Substanz, die die Leberdurchblutung steigern soll. Als weitere Wirkung wird ein stimulierender Effekt auf die Eiweiß- und Enzymsynthese in der Leber angenommen. In den hier dargestellten Untersuchungen sollte u.a. auch geprüft werden, ob die Glukoneogenese der Leber durch Metabolan^{R} verändert wird.

Weitere Untersuchungen galten der Frage, ob sich Gaben von Äthylalkohol bei gleichzeitig bestehender "Glaktosaminhepatitis" schädigend auf die Glukoneogenese der Leber auswirken.
Um genauere Aussagen über den Verlauf und den Grad der Leberschädigung machen zu können, wurden die Aminotransferasen im Serum bei allen Versuchen mitbestimmt und als weiteres Kriterium die Befunde der histologischen Untersuchung der Leber herangezog

2. Methodik

Als Versuchtiere dienten 150 - 200 g schwere, weibliche Sprague-Dawley Ratten der Firma Ivanovas (Kissleg, Allgäu).

Die Tiere wurden jeweils vier Tage vor der Tötung bzw. vier Tage vor der dreitägigen Hungerzeit auf eine eiweißarme- bzw. eiweißfreie Diät gesetzt, damit eine zu starke Streuung vermieden wurde. Die Diät bezogen wir von der Firma Altromin (Lage/Lippe).

Zur Erzeugung der experimentellen Hepatitis wurde D-Galaktosamin-HCl (Firma Carl Roth, Karlsruhe) verwandt. Dieses wurde in 0,45 m wässriger Lösung intraperitoneal appliziert. Sofern nicht anders angegeben, betrug die Dosierung 300 mg/kg Körpergewicht täglich über wechselnde Zeitabstände.

Metabolan^{R} wurde per Schlundsonde in verschiedener Dosierung zugeführt.
Äthylalkohol wurde als 16 %ige wässrige Lösung ebenfalls per Schlundsunde in einer Dosierung von 1 g bzw. 3 g/kg Körpergewicht täglich verabreicht.

Blut wurde in Äthernarkose durch Herzpunktion gewonnen. Nach anschließender Dekapitation wurde die Leber entnommen. Um eine Hämolyse durch Zentrifugieren zu vermeiden, wurde die Retraktion des Blutkuchens abgewartet. Das überstehende Serum wurde abpipettiert.

Je 1,0 g Leber wurde gleich nach der Entnahme mit 0,9 ml 0,14 m eiskalter KCl versetzt und mit dem Ultraturrax 30 sec. homogenisiert. Das Homogenat wurde 40 min. bei 105 000 x g und 4° C zentrifugiert.

Die Enzyme, Aspartat-Aminotransferase (GOT), Alanin-Aminotransferase (GPT) und Serindehydratase wurden photometrisch im dekantierten Homogenatüberstand und im abpipettierten Serum bestimmt (1, 13, 15, 16, 21). Wegen ihrer zu geringen Konzentration im Serum kann die Serindehydratase nur im Homogenat gemessen werden.
Die Bestimmung dieser drei Enzyme baut auf folgendem Prinzip auf:

Unter der Wirkung des zu messenden Enzyms A und der Zugabe eines Starters entsteht eine bestimmte Menge eines Substrates S

in Abhängigkeit von der Enzymkonzentration. Diese Substratmenge kann durch ein anderes, NADH-abhängiges, im Überschuß zugegebenes Enzym B metabolisiert werden. Dabei wird quantitativ NADH + H^+ zu NAD^+ umgesetzt, wobei sich dessen Struktur ändert. Diese Strukturänderung kann man photometrisch bei 346 nm erfassen. Sie ist proportional zur Konzentration des Enzyms A. Daraus ergibt sich die Berechnung der Enzymeinheiten unter Berücksichtigung der Zeiteinheit, der verwendeten Mengen und der Verdünnungen.
Für die Serindehydratase gilt nach Sayre und Greenberg (33) abweichend von der allgemeinen Definition der Enzymeinheit (14) folgendes: Einer Enzymeinheit entspricht diejenige Menge des Enzyms, die 1 µmol Ketosäure in einer Stunde bei Inkubation mit Substratüberschuß bei 37° C produziert.

Folgende Enzymreaktionen laufen im einzelnen ab:

Bei der Aspartat-Aminotransferase:

L-Aspartat + α-Keto-Glutarat $\xrightarrow{GOT}$

Oxalacetat + L-Glutamat

Oxalacetat + NADH + H^+ $\xrightarrow{MDH}$

Malat + NAD^+

Bei der Alanin-Aminotransferase:

L-Alanin + α-Keto-Glutarat $\xrightarrow{GPT}$

Pyruvat + L-Glutamat

Pyruvat + NADH + H^+ $\xrightarrow{LDH}$

Lactat + NAD^+

Bei der Serindehydratase:

L-Serin + H_2O $\xrightarrow{SerDH}$

Pyruvat + NH_3 + H_2O

Pyruvat + NADH + H^+ $\xrightarrow{LDH}$

Lactat + NAD^+

Die Aspartat-Aminotransferase und die Alanin-Aminotransferase wurden mit Eppendorf µl-System bestimmt. Dazu wurden die Bio-

chemica Testkombinationen der Firma Boehringer "GOT-Test" und "GPT-Test" verwandt.
Die Serindehydratase wurde in einem Ansatz von 0,5 ml Homogenatüberstand und 2,0 ml Puffersubstratgemisch 10 min. bei 37° C im Schüttelbad inkubiert. Das Puffersubstratgemisch hatte folgende Zusammensetzung:
6,0 ml Na-Pyrophosphat/HCl-Puffer 0,1 m pH 8,4
3,0 ml H_2O (bzw. 6,0 ml H_2O)
3,0 ml 0,5 m Serinlösung
0,15 ml 0,02 m Pyridoxalphosphatlösung

Der Ansatz für die Leerwerte enthielt 6,0 ml H_2O statt 3,0 ml H_2O und 3,0 ml Serinlösung.
Die Reaktion wurde mit 2,5 ml 10 %iger Perchlorsäure gestoppt. Das dabei ausgefallene Eiweiß wurde 10 min. bei 3000 Umdrehungen abzentrifugiert.
3,0 ml des Überstandes wurden zu 1,0 ml eiskalter 1,1 n $KHCO_3$ pipettiert und mit 2,0 ml 1 n KOH neutralisiert.
In 2,0 ml dieser Lösung wurde die bei der Inkubation gebildete Pyruvatmenge durch Zugabe von NADH + H^+ und LDH bestimmt.
Der Proteingehalt im Homogenat wurde modifiziert nach Lowry gemessen (24).

Die histologische Untersuchung der Leber der Versuchstiere wurde im Pathalogisch-Anatomischen Institut der Universität Freiburg durch Herrn Doz. Dr. Lesch durchgeführt, dem ich für die Überlassung der histologischen Befunde zu besonderem Dank verpflichtet bin.

3. Histologische und biochemische Untersuchungsergebnisse bei der "Galaktosaminhepatitis" nach Hungerinduktion

3.1. Histologische Veränderungen

Nach täglicher Injektion von 300 mg Galaktosamin pro kg Körpergewicht an Ratten über 14 Tage war histologisch eine mäßiggradige Entzündung der Leber festzustellen, die innerhalb der Gruppe nur wenig variierte. Die Periportalfelder waren gering verbreitert, enthielten vermehrt Gallengänge und geringgradig ausgeweitete Gefäße. Das Parenchym bestand aus gleichförmigen kleinen Hepatozyten, die große helle Kerne hatten. Im Parenchym fielen ganz spärlich Einzelzellnekrosen und eine mäßiggradige entzünd-

liche Reaktion auf. Während die Sternzellen dicht PAS-positi
ves, Diastase-resistentes Material enthielten, waren die Hep
tozyten nur durch wenig PAS-positives, Diastase-empfindliche
Material ausgezeichnet. Bei keinem der Tiere wurde eine Ver-
fettung festgestellt. Dagegen fanden sich sehr häufig Mitose
im Parenchym.
Tiere, die in derselben Weise 14 Tage lang Galaktosamin erha
ten hatten, aber zusätzlich drei Tage auf Hunger gesetzt wor
waren, boten stärkere histologische Veränderungen der Leber.
Auch bestanden innerhalb der Gruppe größere Unterschiede. Be
erhaltenem Läppchenaufbau waren die Periportalfelder schmal,
bei einem Teil der Tiere entzündlich infiltriert und enthiel
teilweise vermehrt Gallengänge. Es wurden mehr Einzelzellneki
sen mit entzündlicher Reaktion als bei der ersten Gruppe ange
troffen. Vereinzelt fielen kleine Gruppennekrosen auf. Bei ma
chen Tieren wurde in der Läppchenperipherie eine großtropfige
Epithelverfettung festgestellt, bei anderen waren vermehrt Ei
zelzellnekrosen zu beobachten. Nur bei einem Tier waren hin u
wieder Mitosen im Parenchym festzustellen.

Bei Tieren, denen über 3 Wochen täglich dieselbe Galaktosamin
dosis injiziert wurde, waren entsprechende Leberveränderungen
nachzuweisen. Bei erhaltenem Läppchenaufbau waren die Peripor
talfelder etwas aufgelockert und gering entzündlich infiltrie
Die Sinusoide waren mäßig ausgeweitet und deutlich aktiviert.
Sie enthielten PAS-positives, Diastase-resistentes Material.
Häufig wurden Einzelzellnekrosen und Councilmankörperchen mit
entzündlicher Reaktion angetroffen, vielfach kamen Parenchym-
mitosen zur Beobachtung. Eine Verfettung wurde nicht, eine Pr
feration von Gallengangsepithelien öfters festgestellt.
Dagegen wiesen Ratten, die lediglich über vier Tage eiweißfre
ernährt wurden oder anschließend noch über drei Tage hungerte
keine histologisch faßbaren Leberveränderungen auf.

3.2. Veränderungen der Aminotransferasen (GOT und GPT) im Serum

Unter der Behandlung mit Galaktosamin kam es zu einem deutlich
Anstieg der Aminotransferasen im Serum (SGOT, SGPT), wobei di
SGOT im Vergleich zur SGPT stärker anstieg. Die Serumwerte ä
dern sich unter Hungerbelastung kaum. Wie aus Tabelle 1 herv
geht, betrug die Aktivität der SGOT nach 14-tägiger Behandlu

mit Galaktosamin etwa das Dreifache des Normalwertes. Eine weitere 7-tägige Galaktosaminverabreichung führte zu keiner weiteren Zunahme der Enzymaktivität.

	normale Tiere			14 Tage lang je 300mg Gal-N/kg KG tgl.			21 Tage lang je 300mg Gal-N/kg KG tgl		
	m	SD	(n)	m	SD	(n)	m	SD	(n)
4 Tage eiweißfreie Diät	50,6 ±	27,8	(7)	176,4 ±	67,3	(15)	112,8 ±	35,8	(7)
4 Tage eiweißfreie Diät +3 Tage Hunger	49,1 ±	7,7	(9)	198,1 ±	105,0	(10)	159,5 ±	53,4	(5)

Tabelle 1: Veränderungen der Aspartat-Aminotransferase im Serum von Ratten unter eiweißfreier Diät mit oder ohne Hungerperiode bei unterschiedlich langen täglichen Gaben von Galaktosamin.

Die SPGT stieg unter der Behandlung ebenfalls an. Die Aktivität betrug nach 14-tägiger täglicher Galaktosamininjektion etwa das Doppelte gegenüber nicht behandelten Tieren (s.Tab. 2). Wie bei der SGOT führte eine weitere Verabreichung von Galaktosamin nicht mehr zu stärker ausgeprägten Aktivitätsveränderungen. Die Kontrolltiere, die kein Galaktosamin erhalten hatten, wiesen unter Hungerbelastung etwa dieselben Aktivitäten auf wie die Kontrolltiere ohne Hungerbelastung. Auffallend waren nur die Serumenzymaktivitäten nach 14-tägiger Galaktosaminbehandlung und dreitägiger Hungerzeit.
Die starke Streuung der SGPT kam durch folgende Einzelwerte zustande:

1) 12,64	6) 110,60
2) 139,04	7) 31,60
3) 52,14	8) 23,70
4) 28,44	9) 47,40
5) 34,76	10) 9,48

Es ließ sich keine Korrelation zwischen der Höhe der einzelnen Enzymaktivitäten im Serum und dem Ausmaß der histologischen Veränderungen in der Leber feststellen.
Nach 21-tägiger Behandlung betrug die Enzymaktivität nur knapp das Doppelte, sodaß kein wesentlicher Unterschied mehr zwischen den Tieren mit und ohne Hungerbelastung bestand.

	normale Tiere			14 Tage lang je 300mg Gal-N/kg KG tgl.			21 Tage lang je 300mg Gal-N/kg KG t		
	m	SD	(n)	m	SD	(n)	m	SD	(n)
4 Tage eiweißfreie Diät	12,6	± 3,5	(7)	24,8	± 12,6	(15)	18,9	± 7,4	(7)
4 Tage eiweißfreie Diät +3 Tage Hunger	14,9	± 5,5	(9)	47,5	± 43,2	(10)	23,9	± 13,1	(5)

Tabelle 2: Veränderungen der Alanin-Aminotransferase im Serum von Ratten unter eiweißfreier Diät mit oder ohne Hungerperiode bei unterschiedlich langen täglichen Gaben von Galaktosamin.

3.3. Veränderungen der Aminotransferasen und der Serindehydrase im Leberhomogenat

In der Leber kam es unter der Einwirkung von Galaktosamin zu einer hoch signifikanten Abnahme der Aminotransferasen (s. Tab. 3 und Abb. 1).
Nach intraperitonealer Verabreichung von Galaktosamin über 14 Tage betrug die Aktivität der Aspartat-Aminotransferase in der Leber nur noch 70 % der Aktivität der Kontrolltiere ($0{,}005 > p > 0{,}001$). Unter weiteren täglichen Galaktosamingaben nahm die Aktivität in der Leber weiter ab und betrug nach 21 Tagen lediglich noch etwa 45 % gegenüber dem Mittelwert unbehandelter Kontrolltiere ($p < 0{,}001$).

	GOT mU/mg Protein			GPT mU/mg Protein			SERIN-DEHYDRATASE mU/mg Protein / Std.		
	m	SD	(n)	m	SD	(n)	m	SD	(n)
4 Tage eiweißfreie Diat	359,0 ±	95,5	(8)	126,0 ±	58,5	(8)	0,19 ±	0,07	(8)
+3 Tage Hunger	636,6 ±	120,5	(9)	274,0 ±	65,8	(9)	4,94 ±	1,00	(9)
14 Tage lang je 300 mg Gal N / kg KG									
+ 4 Tage eiweißfreie Diat	246,3 ±	53,6	(15)	75,0 ±	32,5	(15)	0,19 ±	0,09	(15)
+ 3 Tage Hunger	387,3 ±	65,1	(10)	92,4 ±	45,2	(10)	2,18 ±	1,80	(9)
21 Tage lang je 300 mg Gal N / kg KG									
+ 4 Tage eiweißfreie Diät	158,6 ±	26,6	(7)	31,8 ±	15,8	(7)	0,24 ±	0,08	(7)
+ 3 Tage Hunger	382,7 ±	104,5	(5)	55,9 ±	22,5	(5)	4,03 ±	2,93	(5)

Tabelle 3: Aktivitäten der Aspartat-Aminotransferase (GOT), Alanin-Aminotransferase (GPT) und der Serindehydratase in der Leber von Ratten unter einer eiweißfreien Diät mit oder ohne dreitägige Hungerperiode nach verschieden langer Verabreichung von Galaktosamin (GalN)

Aus Tabelle 3 und Abbildung 1 geht hervor, daß auch die Aktivität der Alanin-Aminotransferase (GPT) in der Leber behandelter Tiere stark abnahm. Nach 14 Tagen wurden noch etwa 60 % der ursprünglichen Enzymaktivitäten in der Leber nachgewiesen. Nach weiterer Galaktosaminverabreichung fiel der Mittelwert der Enzymaktivität weiter ab. Tiere, denen 21 Tage lang Galaktosamin injiziert wurde, hatten im Mittel nur noch etwa 25 % der Enzymaktivität, die bei den Kontrolltieren gefunden wurde.

Die Aktivität der Serindehydratase bei Normaltieren war gering und wurde durch Galaktosmain nicht verändert.

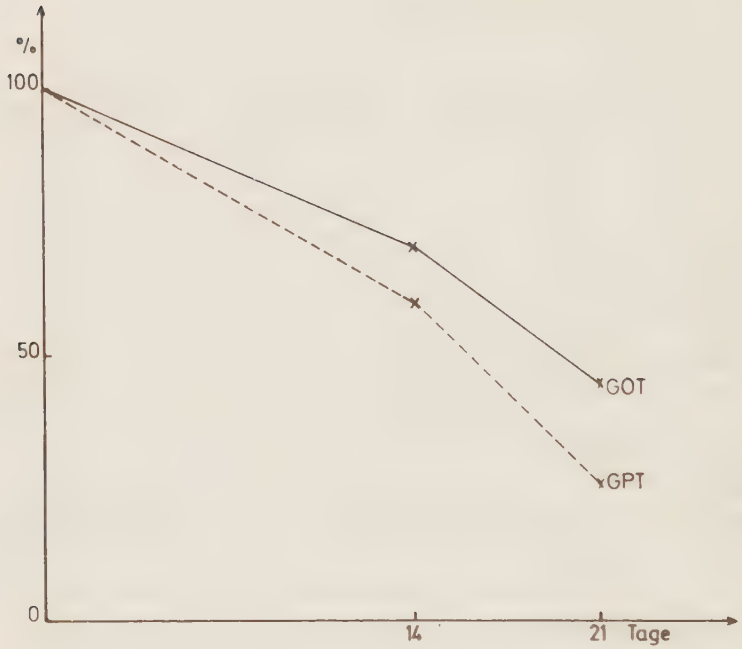

Abbildung 1: Abnahme der Aspartat-Aminotransferase und der Alanin-Aminotransferase in der Leber von Ratten unter Verabreichung von Galaktosamin

Nach abgeschlossener täglicher Verabreichung von Galaktosamin über 14 Tage stiegen die Aktivitäten der Aspartataminotransferase und der Alanin-Aminotransferase in der Leber erst nach einer gewissen Zeit wieder an (s. Tab. 4 und Abb. 2).

Zeit nach Absetzen einer 14-tägigen Behandlung mit Gal-N	Aspartat-Aminotransferase (mU/mg Protein) m		SD	(n)	Alanin-Aminotransferase (mU/mg Protein) m		SD	(n)
4 Tage	214,1	±	18,3	(5)	44,3	±	9,1	(5)
8 Tage	164,6	±	24,4	(5)	43,0	±	22,6	(5)
12 Tage	343,5	±	39,8	(5)	120,3	±	41,4	(5)

Tabelle 4: Verhalten der Aktivitäten der Aspartat-Aminotransferase und der Alanin-Aminotransferase in der Leber von Ratten nach Absetzen einer 14-tägigen Behandlung mit Galaktosamin.

4 Tage nach Absetzen des Galaktosamins ließ sich eine weitere Aktivitätsabnahme feststellen, die bei der Alanin-Aminotransferase stärker ausgeprägt war als bei der Aspartat-Aminotransferase. Acht Tage nach Absetzen von Galaktosamin war die Aktivität der Alanin-Aminotransferase etwa konstant, während der Mittelwert der Aspartat-Aminotransferase weiter absank und nur noch etwa die Hälfte des Normalwertes betruf. In den folgenden Tagen kam es zu einer erheblichen Aktivitätszunahme beider Enzyme, deren Mittelwerte 12 Tage nach Absetzen von Galaktosamin wiederum im Normalbereich lagen.

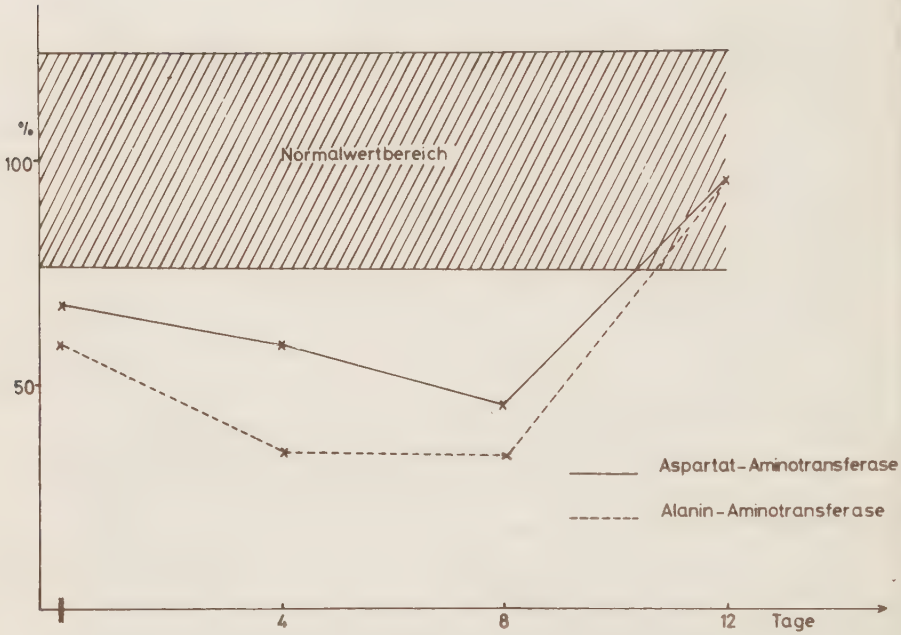

Abbildung 2: Verhalten der Aktivitäten der Aspartat-Aminotransferase und der Alanin-Aminotransferase in der Leber von Ratten nach Absetzen einer 14-tägigen Behandlung mit Galaktosamin.

Eine 3-tägige Hungerperiode führte bei Normaltieren zu einer Zunahme der Aspartat-Aminotransferase in der Leber auf knapp das Doppelte. Im Vergleich damit war der Anstieg bei Tieren, denen über 2 Wochen Galaktosamin intraperitoneal verabreicht worden war, geringer. Wie aus Tab. 3 hervorgeht, wurden bei 14 bis 21 Tage lang mit Galaktosamin behandelten Tieren etwa die gleichen mittleren Aktivitäten der Aspartat-Aminotransferase im Anschluß an eine 3-tägige Hungerperiode beobachtet.

Tabelle 3 zeigt, daß die Aktivität der Alanin-Aminotransferase unter Hunger bei Normaltieren auf das Doppelte anstieg. Gegenüber dieser sehr hohen Zunahme fiel auf, daß sich die Alanin-Aminotransferase bei Tieren, die 14 Tage lang mit Galaktosamin behandelt wurden, unter Hunger nur wenig veränderte. Die Aktivitätsvermehrung betrug nur etwa ein Viertel. Nach 21-tägiger Verabreichung von Galaktosamin und derselben Hungerperiode ließ sich eine stärkere Zunahme der Alanin-Aminotransferase feststellen, die im Mittel 80 % betrug. Stark ausgeprägt war die Aktivitätsveränderung der Serindehydratase durch die Hungerperiode und zwar bei allen drei Gruppen. Auch nach 14- bzw. 21-tägiger Behandlung mit Galaktosamin kamen stark erhöhte Serindehydratase-Werte vor, die sich trotz Zunahme der Streubreite deutlich von den ohne Hungerbelastung ermittelten Vergleichswerten abhoben.

3.4. Statistische Auswertung der Befunde

Zur Frage, wie weit die festgestellten Enzymveränderungen allein durch die vorangegangene Hungerperiode oder zusätzlich durch die Behandlung mit Galaktosamin bedingt sind, wurde eine statistische Prüfung [+] vorgenommen. Dazu wurde folgende Hypothese aufgestellt:

Die Differenzen zwischen Werten von Tieren mit und ohne Hungerbelastung ($\varphi_2 - \varphi_1$) und zwischen Werten von Tieren mit und ohne Hungerbelastung unter einer Behandlung mit Galaktosamin ($\varphi_4 - \varphi_3$) sind gleich bzw. nicht gleich.
Der Gang der Prüfung wird hier kurz erläutert. (Berechnungen s.S.38ff.).

1) Mit dem Bartlett-Test wurde für jedes Enzym geprüft, ob die Varianzen der vier Grundgesamtheiten gleich sind. Dabei ergab sich, daß bei der Aspartat-Aminotransferase und bei der Alanin-Aminotransferase die Varianzen gleich, bei der Serindehydratase nicht gleich sind.

2) Es wurde eine einfache Varianzanalyse durchgeführt. Die Gleichheit der Varianzen ist eine Voraussetzung zur Durchführung einer Varianzanalyse. Eine Normalverteilung wurde angenommen. Als Faktoren zur Entstehung von Unterschieden können in unseren Versuchen die Verabreichung von Galaktosamin, die Hungerbelastung und der Zufall beitragen.
Die einfache Varianzanalyse ergab bei der Aspartat-Aminotransferase und bei der Alanin-Aminotransferase ein hoch signifikantes p ($< 0{,}001$) nach dem F-Test.

3) Bei der Prüfung, ob ein Unterschied besteht zwischen Werten von Tieren mit und ohne Hungerbelastung, ergab sich, daß unter Hungerbelastung alle Werte signifikant höher sind bis auf den Wert der Alanin-Aminotransferase bei den mit Galaktosamin behandelten Tieren.

4) Bei der Prüfung der oben aufgestellten Hypothese wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den Differenzen bei den Werten der Aspartat-Aminotransferase und der Alanin-Aminotransferase festgestellt.
Damit läßt sich sichern, daß Galaktosamin bei den beiden genannten Enzymen die Hungerinduktion in der Leber herabsetzt.

[+] Die Anleitung zu den statistischen Erhebungen verdanke ich Frau Prof.Geppert (Institut für Medizinische Biometrie der Universität Tübingen)

4. Untersuchungen über die Beeinflussung der "Galaktosaminhepatitis" durch Xantinol-Nicotinat

4.1. Histologische Befunde und biochemische Veränderungen bei einmaliger Galaktosamingabe

Nach einer eiweißarmen Ernährung über 4 Tage und einer einmaligen Gabe von Galaktosamin (375 mg/kg Körpergewicht) wurden histologisch deutliche Leberveränderungen mit nur geringen Schwankungen innerhalb der Versuchsgruppe angetroffen.
Der Läppchenbau blieb erhalten. Die Periportalfelder waren etwas aufgelockert und lymphozytär, histiozytär oder plasmazellulär infiltriert. Die Gallengänge waren ausgeweitet, die Sternzellen deutlich aktiviert. Disseminiert waren Einzelzellnekrosen mit entzündlicher Reaktion und Councilmankörperchen festzustellen. Vor allem in der Nähe der Zentalvenen fanden sich kleine Gruppennekrosen mit lockerer, zum Teil leukozytärer Infiltration. Ganz gering war PAS-positives, Diastase-empfindliches Material nachweisbar.

Im Vergleich dazu zeigten Tiere, denen im Abstand von zwei und vier Stunden nach der Galaktosamin-Injektion je 750 mg Metabolan/kg Körpergewicht zugeführt worden waren, folgende Veränderungen:
Die Periportalfelder waren teilweise verbreitert und nicht nur locker, sondern deutlich entzündlich infiltriert, vorwiegend mit polymorphkernigen Leukozyten. Um die disseminiert verteilten Einzelzellnekrosen und Councilmankörperchen fanden sich Ansammlungen von Entzündungszellen. Sternzellen waren nicht aktiviert, PAS-positives, Diastase-empfindliches Material war nicht zu erkennen. Vereinzelt waren auch kleine Gruppennekrosen mit entzündlichen Reaktionen in den Läppchenzentren nachzuweisen.
Die Leberveränderungen der "Galaktosaminhepatitis" waren eher stärker ausgeprägt nach Verabreichung von Metabolan®, welches Xantinol-Nicotinat enthält. Eine exakte Beurteilung wäre allerdings erst durch Auszählen der Veränderungen pro Flächeneinheit möglich.

Die Veränderungen der beiden Aminotransferasen im Serum sind in Tabelle 5 aufgeführt. Fünfeinhalb Stunden nach einer einmaligen Gabe von Galaktosamin kam es zu einem Anstieg der Aspartat-Aminotransferase und der Alanin-Aminotransferase. Die Unterschiede der Aminotransferasen im Serum zu den Werten der nicht mit Galaktosamin behandelten Tiere waren nur bei der Alanin-Aminotransferase signifikant, dagegen bei der Aspartat-Aminostransferase statistisch nicht zu sichern ($0,3 > p > 0,25$).
Metabolan^{R} führte bei der Alanin-Aminotransferase nicht zu einer Änderung der Serumaktivität, bei der Aspartat-Aminotransferase dagegen zu einem leichten Aktivitätsanstieg.
Statistisch zu sichern war lediglich der Unterschied zwischen den Mittelwerten von unbehandelten Tieren und Ratten mit einer "Galaktosaminheptatitis" und entsprechender Metabolanbehandlung für die Aspartat-Aminotransferase.

	Aspartat-Aminotransferase (mU/ml)				Alanin-Aminotransferase (mU/ml)			
	m		SD	(n)	m		SD	(n)
Normaltiere	53,5	±	17,3	(13)	14,4	±	5,6	(13)
1x 375mg Gal-N/kg KG	112,1	±	56,4	(15)	42,4	±	21,2	(19)
1x375mg Gal-N/kg KG 2x750mg Metabolan/kg KG	156,9	±	85,8	(25)	39,9	±	21,4	(25)

Tabelle 5: Aktivitäten der Aspartat-Aminotransferase und der Alanin-Aminotransferase im Serum von Ratten nach Behandlung mit Galaktosamin und Metabolan^{R}.

Die Enzymveränderungen in der Leber bei unbehandelten, mit Galaktosamin sowie mit Metabolan^{R} behandelten Ratten sind in Tabelle 6 wiedergegeben. Eine einmalige Galaktosamingabe führte zu einer signifikanten Abnahme der Aspartat-Aminotransferase ($0,02 > p > 0,01$). Wurde zusätzlich Metabolan^{R} verabreicht, so stieg der Mittelwert der Aspartat-Aminotransferase

signifikant an und lag etwas höher als der der unbehandelten Tiere ($0,02 > p > 0,01$).

Im Gegensatz zum Verhalten der Aspartat-Aminotransferase waren bei der Alanin-Aminotransferase nur geringe Unterschiede der Mittelwerte der Ratten mit"Galaktosaminhepaptitis" ohne oder mit Gabe von Metabolan^{R} festzustellen. Doch waren diese Mittelwerte gegenüber dem Mittelwert der nicht behandelten Kontroll-Tiere deutlich erhöht ($0,05 > p > 0,025$).

Bei der Serindehydratase war nach der einmaligen Galaktosaminverabreichung eine mäßig ausgeprägte, nicht signifikante Zunahme der Aktivität in der Leber nachzuweisen, die nach Verabreichung von Metabolan^{R} noch verstärkt wurde. Gegenüber unbehandelten Tieren bestand ein deutlicher Unterschied ($0,05 > p > 0,025$).

	Aspartat-Aminotransferase (mU/mg Protein)			Alanin-Aminotransferase (mU/mg Protein)			Serindehydratase (mU/mg Protein/Std.)		
	m ± SD		(n)	m ± SD		(n)	m ± SD		(n)
Normaltiere	274,2 ±	45,6	(8)	70,5 ±	26,4	(6)	0,43 ±	0,20	(6)
1x375mg Gal-N/kg KG	219,0 ±	41,0	(13)	99,8 ±	12,9	(6)	1,32 ±	1,23	(6)
1x375mg Gal-N/kg KG 2x750mg Metabolan/kg KG	319,1 ±	47,7	(6)	110,1 ±	22,4	(6)	1,83 ±	1,35	(6)

Tabelle 6: Aktivitäten der Aspartat-Aminotransferase, der Alanin-Aminotransferase und der Serindehydratase in der Leber von Ratten nach Behandlung mit Galaktosamin und Metabolan^{R}.

4.2. Histologische Befunde und biochemische Veränderungen bei täglicher Galaktosaminverabreichung über zwei Wochen.

Wurden die Tiere bei schon bestehender und weiterhin durch Galaktosaminverabreichung (über 14 Tage) aufrechterhaltener Hepatitis in den letzten acht Tagen zusätzlich mit täglich

350 mg Metabolan^{R}/kg Körpergewicht behandelt, fanden sich vor allem vermehrt Einzelzellnekrosen. Wie bei den allein mit Galaktosamin behandelten Tieren (vgl. Kap. 3.1.) waren auchhier die Periportalfelder gering ausgeweitet; zusätzlich war das Stroma locker rundzellig infiltriert.
Im Parenchym wurden neben zahlreichen Einzelzellnekrosen Councilmankörperchen und eine deutlich entzündliche Reaktion angetroffen. Mitosen ließen sich im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren nur vereinzelt nachweisen. Eine Verfettung wurde nicht beobachtet.
Die Aktivität der Aspartat-Aminotransferase im Serum stieg nach der Behandlung mit Metabolan^{R} deutlich an ($0,05 > p > 0,025$), was bei der Alanin-Aminotransferase vermißt wurde (s.Tab. 7).

In der Leber ließ sich durch Metabolan^{R} keine wesentliche Aktivitätssteigerung der Aspartat-Aminotransferase nachweisen. Die Aktivitäten der mit und ohne Metabolan^{R} behandelten Ratten mit "Galaktosaminhepatitis" lagen nahe beieinander (s.Tab. 8). Eine geringe Aktivitätszunahme wurde lediglich bei der Alanin-Aminotransferase beobachtet ($0,1 > p > 0,05$). Bei der Serindehydratase in der Leber fand sich dagegen ein signifikanter Anstieg bei Ratten mit Galaktosaminhepatitis unter einer Behandlung mit Metabolan^{R} ($0,05 > p > 0,025$).

4.3. Histologische Befunde und biochemische Veränderungen nach Absetzen von Galaktosamin.

In einer dritten Versuchsreihe wurde geprüft, ob nach Absetzen des Galaktosamins durch Metabolangaben eine raschere Restitution der Leber nachzuweisen war.
Gegenüber den nicht mit Metabolan^{R} behandelten Tieren zeigten Tiere, die nach Verabreichung von 300 mg Galaktosamin/kg Körpergewicht über 14 Tage an 4 Tagen täglich 350 mg Metabolan^{R} erhalten hatten, folgende Unterschiede:
Die Periportalfelder waren geringgradig mit Rundzellen oder Granulozyten infiltriert, die Gallengänge hatten ein abgeflachtes Epithel. Das Parenchym bestand aus gleichförmigen, glykogenreichen Zellen, ganz vereinzelt kamen Einzelzellnekrosen zur Beobachtung. Die Sternzellen waren in geringem Maße vergrößert und vermehrt.

	Aspartat - Aminotransferase mU/ml				Alanin - Aminotransferase mU/ml			
	m		SD	(n)	m		SD	(n)
14 Tage lang je 300 mg Gal-N pro kg KG tgl	98,8	±	13,7	(4)	17,4	±	8,3	(4)
14 Tage lang je 300 mg Gal-N pro kg KG tgl 8 Tage lang je 750 mg Metabolan pro kg KG tgl	209,8	±	76,4	(4)	26,9	±	10,8	(9)

Tabelle 7: Aktivitäten der Aspartat-Aminotransferase und der Alanin-Aminotransferase im Serum von Ratten nach 14-tägiger Behandlung mit Galaktosamin und 8-tägiger Behandlung mit Metabolan^{R}.

	Aspartat - Aminotransferase (mU/mg Protein)				Alanin - Aminotransferase (mU/mg Protein)				Serindehydratase (mU/mg Protein / Std.)			
	m		SD	(n)	m		SD	(n)	m		SD	(n)
14 Tage lang je 300 mg Gal-N pro kg KG tgl.	212,4	±	40,7	(5)	57,4	±	12,5	(5)	0,17	±	0,05	(5)
14 Tage lang je 300 mg Gal-N pro kg KG tgl. 8 Tage lang je 750 mg Metabolan pro kg KG tgl.	230,5	±	59,2	(10)	71,2	±	23,8	(10)	0,42	±	0,21	(9)

Tabelle 8: Aktivitäten der Aspartat-Aminotransferase, der Alanin-Aminotransferase und der Serindehydratase in der Leber von Ratten nach 14-tägiger Behandlung mit Galaktosamin und 8-tägiger Behandlung mit Metabolan^{R}.

8 Tage nach Absetzen des Galaktosamins fand man wieder eine typische Läppchenstruktur. Die Periportalfelder waren schmal undnicht entzündlich infiltriert. Die Gallengänge hatten annähernd kubisches Epithel. Das Parenchym bestand aus glykogenreichen Hepatozyten. Gelegentlich waren Einzelzellnekrosen festzustellen. Die Sternzellen waren gering vergrößert und dicht beladen mit PAS-positivem, Diastase-resistentem Material. 12 Tage nach der letzten Galaktosamininjektion waren außer dem typischen Läppchenaufbau ausgeweitete Periportalfelder und teilweise mit abgeflachtem Epithel ausgekleidete Gallengänge nachzuweisen. Eine entzündliche Infiltration war nicht vorhanden. Die Leberzellbälkchen und Sternzellen waren schmal, die Zentralvenen und Sinusoide stark ausgeweitet. Nach den verschiedenen Zeitintervallen waren zwischen den mit Metabolan® behandelten und unbehandelten Tieren nur geringe Unterschiede vorhanden.

Zusammenfassend ist zu den histologischen Befunden zu bemerken, daß nach einer 14-tägigen Behandlung mit Galaktosamin typische Zeichen einer Hepatitis nachweisbar waren und sich bereits 4 Tage nach Absetzen des Galaktosamins die entzündlichen Infiltrate und Einzelzellnekrosen weitgehend zurückgebildet hatten, geringfügige Veränderungen fanden sich noch nach 8 Tagen. 12 Tage nach Absetzen von Galaktosamin waren keine entzündlichen Veränderungen mehr festzustellen.

Über das Verhalten der Enzymaktivitäten im Serum orientieren Tabelle 9 und Abbildung 3.

Zeit nach Absetzen einer 14 tag. Behandlung mit Gal-N	Aspartat-Aminotransferase (mU/ml) m	SD	(n)	Alanin-Aminotransferase (mU/ml) m	SD	(n)
4 Tage						
Kontrolltiere	82,2 ±	40,5	(5)	17,4 ±	5,3	(5)
Metabolantiere	69,5 ±	19,7	(5)	12,9 ±	1,3	(5)
8 Tage						
Kontrolltiere	85,3 ±	20,4	(5)	13,6 ±	3,1	(5)
Metabolantiere	96,4 ±	54,6	(5)	15,5 ±	7,5	(5)
12 Tage						
Kontrolltiere	51,2 ±	14,8	(5)	11,4 ±	2,6	(5)
Metabolantiere	41,4 ±	5,0	(5)	10,6 ±	1,8	(5)

Tabelle 9: Aktivitäten der Aspartat-Aminotransferase und der Alanin-Aminotransferase im Serum von Ratten bei Verabreichung von Metabolan^{R} nach Absetzen einer 14-tägigen Behandlung mit Galaktosamin.

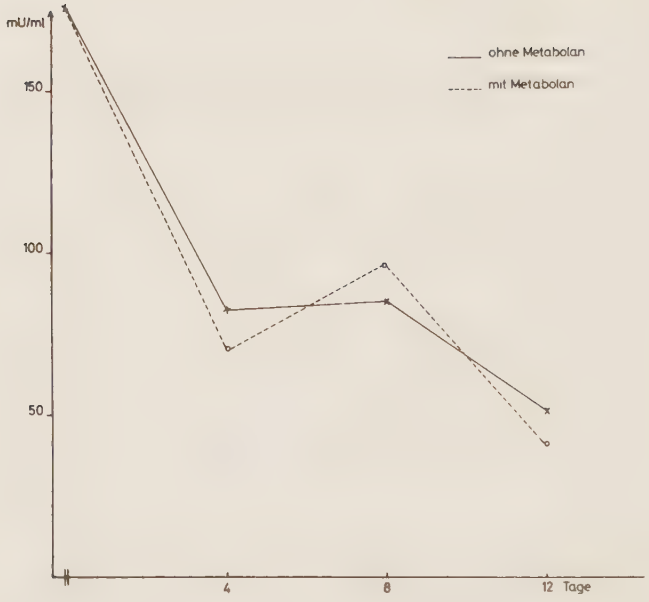

Abbildung 3: Abnahme der Aktivität der Aspartat-Aminotransferase im Serum von Ratten nach Absetzen einer 14-tägigen Behandlung mit Galaktosamin und anschließender Behandlung mit Metabolan^{R} über 4, 8 oder 12 Tage.

Bei den mit und ohne Metabolan^{R} behandelten Ratten kam es innerhalb der ersten vier Tage nach Absetzen von Galaktosamin zu einer deutlichen Aktivitätsabnahme der Aspartat-Aminotransferase und der Alanin-Aminotransferase. Während die Serumaktivitäten der beiden Aminotransferasen 8 Tage nach Verabreichung von Galaktosamin nahezu unverändert waren, lagen die Enzymaktivitäten 12 Tage nach Absetzen von Galaktosamin im Bereich der Norm.

In Kap. 4.1. wurde beschrieben, daß es nach Absetzen von Galaktosamin zunächst zu einer weiteren Abnahme der Aspartat-Amino-

transferase in der Leber kommt. In den letzten vier Tagen der Beobachtungszeit wurde eine signifikante Aktivitätszunahme festgestellt. Durch Verabreichung von Metabolan^{R} nach Absetzen des Galaktosamins wurde das weitere Verhalten der Enzymaktivitäten in der Leber geändert (s. Tab. 10 u. Abb. 4).

Zeit nach Absetzen einer 14-tägigen Behandlung mit Gal.-N	Aspartat - Aminotransferase (mU/mg Protein)				Alanin - Aminotransferase (mU/mg Protein)				Serindehydratase (mU/mg Protein/Std.)			
	m		SD	(n)	m		SD	(n)	m		SD	(n)
4 Tage												
Kontrolltiere	214,1	±	18,3	(5)	44,3	±	9,1	(5)	0,21	±	0,02	(5)
Metabolantiere	273,6	±	49,3	(5)	56 7	±	11,8	(5)	0,34	±	0,16	(5)
8 Tage												
Kontrolltiere	164,6	±	24,4	(5)	43,0	±	22,6	(5)	0,46	±	0,13	(5)
Metabolantiere	217,6	±	46,0	(5)	33,9	±	10,7	(5)	0,48	±	0,23	(5)
12 Tage												
Kontrolltiere	343,5	±	39,8	(5)	120,3	±	41,4	(5)	1,01	±	0,39	(5)
Metabolantiere	349,3	±	40,9	(5)	86,8	±	2,8	(5)	1,26	±	0,42	(5)

Tabelle 10: Aktivitäten der Aspartat-Aminotransferase, der Alanin-Aminotransferase und der Serindehydratase in der Leber von Ratten nach 14-tägigen Gaben von Galaktosamin ohne und mit anschließender Behandlung mit Metabolan^{R}.

Vier Tage nach Absetzen von Galaktosamin fand sich eine Zunahme der Aktivität der Aspartat-Aminotransferase. Der Unterschied zwischen der mit Metabolan^{R} behandelten Gruppe und der unbehandelten Gruppe war signifikant ($0,05 > p > 0,025$). Nach 8 Tagen nahm auch bei Tieren, die mit Metabolan^{R} behandelt wurden, die mittlere Enzymaktivität ab. Sie lag aber noch höher als bei den unbehandelten Ratten ($0,1 > p > 0,05$). Zwölf Tage nach der letzten Galaktosamin-Injektion hatte die Aspartat-Aminotransferase den Normalwert wieder erreicht ($359,06 \pm 95,00$). Der Anstieg in diesem Intervall war signifikant ($0,0025 > p > 0,0005$).

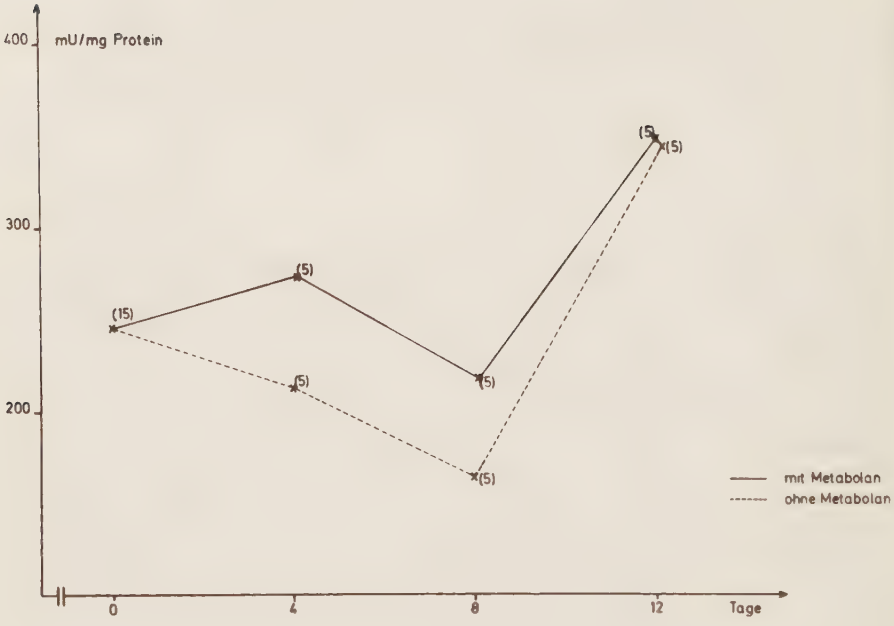

Abbildung 4: Veränderung der Aspartat-Aminotransferase in der Leber von Ratten nach Absetzen einer 14-tägigen Verabreichung von Galaktosamin ohne und mit anschließender Metabolan^{R}-Behandlung über 4, 8 oder 12 Tage.

Ohne Metabolanbehandlung war bei der Alanin-Aminotransferase zunächst eine Abnahme der Aktivität festzustellen, danach blieb der Mittelwert etwa gleich und stieg in den letzten 4 Tagen signifikant bis zur Höhe des Normalwertes ($126,0 \pm 58,50$) an. Bei den mit Metabolan^{R} behandelten Tiere war nach vier Tagen und auch noch nach 8 Tagen eine mäßige Aktivitätsabnahme zu beobachten. Eine signifikante Zunahme erfolgte in den letzten vier Tagen. Der Normalwert wurde nicht ganz erreicht (s. Abb.5).

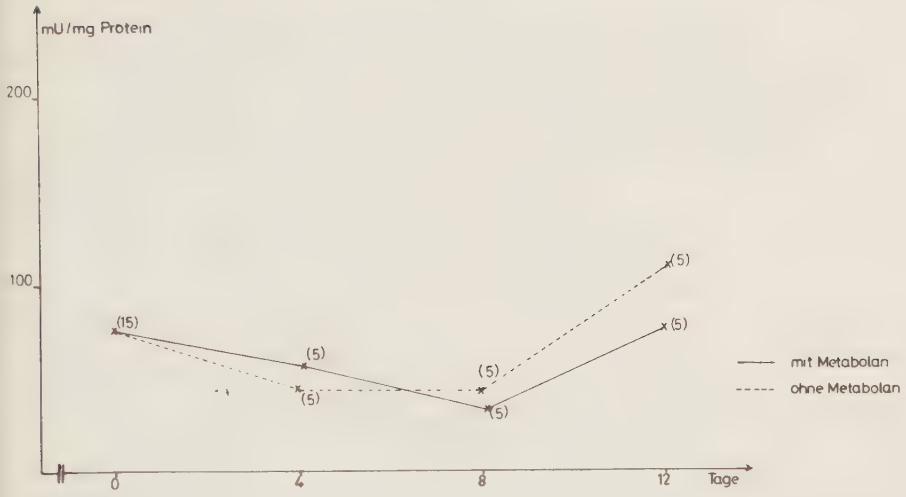

Abbildung 5: Veränderung der Alanin-Aminotransferase in der Leber von Ratten nach Absetzen einer 14-tägigen Verabreichung von Galaktosamin ohne und mit anschließender Metabolan^{R}-Behandlung über 4, 8 oder 12 Tage.

Im Gegensatz dazu nahmen die Mittelwerte der Aktivitäten der Serindehydratase in der Leber von Tieren mit und ohne Behandlung mit Metabolan^{R} zu (Tab. 10 und Abb. 6).

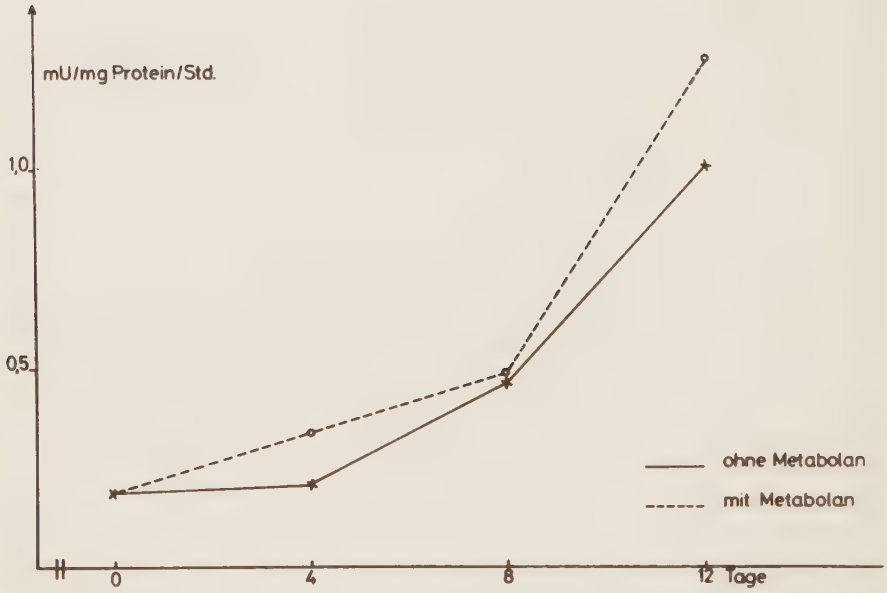

Abbildung 6: Veränderung der Serindehydratase in der Leber von Ratten nach Absetzen einer 14-tägigen Verabreichung von Galaktosamin ohne und mit anschließender Metabolan^{R}-Behandlung über 4, 8 oder 12 Tage.

Nach 8 Tagen waren nur noch geringe Unterschiede der Mittelwerte behandelter und unbehandelter Tiere festzustellen. Nach 12 Tagen waren in beiden Gruppen die Mittelwerte weiter signifikant angestiegen und hatten den Normalwert ($0,19 \pm 0,07$) um ein Vielfaches übertroffen.

Im Verlauf der Untersuchungen ließen sich Wechselbeziehungen zwischen den histologischen Befunden und den Veränderungen der Aminotransferasen im Serum erkennen. Entsprechend dem deutlichen Abfall der Aminotransferasen im Serum hatten sich 4 Tage nach Absetzen von Galaktosamin auch histologisch die Entzündungserscheinungen weitgehend zurückgebildet. 4 Tage später

waren keine wesentlichen Veränderungen der Serumaktivitäten der Aminotransferasen und der histologischen Befunde zu beobachten. 12 Tage danach ließen sich keinerlei entzündliche Veränderungen mehr nachweisen, die Aminotransferasen im Serum lagen nun im Normbereich.

5. Untersuchungen über die Beeinflussung der "Galaktosaminhepatitis" durch Äthylalkohol

5.1. Biochemische Veränderungen nach gleichzeitiger Verabreichung von Galaktosamin und niedrigen Alkoholdosen über 13 Tage

In der ersten Versuchsreihe wurden Ratten 13 Tage lang 1 g Alkohol/kg Körpergewicht per Schlundsonde zugeführt. Die gleichzeitige Behandlung mit Galaktosamin (300 mg/kg Körpergewicht täglich) wurde einen Tag zuvor begonnen.
Wie Tabelle 11 zeigt, ließ sich nur ein geringer Einfluß der gleichzeitigen Alkoholgaben auf die Enzymaktivitäten im Serum und in der Leber von Ratten mit Galaktosaminhepatitis feststellen. Lediglich der Mittelwert der Serindehydratase-Aktivität nahm unter Alkohol deutlich ab und betrug ungefähr ein Drittel der Aktivitäten in der nicht mit Alkohol behandelten Kontrollgruppe mit "Galaktosaminhepatitis". Die starke Streuung der Aktivitäten muß dabei jedoch hervorgehoben werden.

Versuchsbedingungen	Aspartat-Aminotransferase (mU/mg Protein)			Aspartat-Aminotransferase (mU/ml)			Alanin-Aminotransferase (mU/mg Protein)			Alanin-Aminotransferase (mU/ml)			Serindehydratase (mU/mg Protein)		
	m	SD	(n)	m	SD	(n)	m	SD	(n)	m	SD	(n)	m	SD	(n)
14 Tage lang je 300 mg Gal-N/kg KG tgl. 4 Tage ew-fr Diät	230,5	± 24,3	(6)	96,2	± 48,1	(6)	59,3	± 27,9	(6)	13,6	± 0,9	(6)	0,40	± 0,22	(6)
14 Tage lang je 300 mg Gal-N/kg KG tgl. 13 Tage lang je 1 g Alk /kg KG tgl. 4 Tage lang ew-fr Diät	219,7	± 32,9	(11)	102,8	± 34,1	(11)	53,4	± 14,5	(11)	16,5	± 5,0	(11)	0,26	± 0,09	(10)

Tabelle 1: Verhalten der Enzymaktivitäten in der Leber und im Serum von Ratten bei "Galaktosamin-Hepatitis" mit und ohne gleichzeitige Verabreichung von Äthylalkohol

5.2. Histologische Befunde und biochemische Veränderungen nach gleichzeitiger Verabreichung von Galaktosamin und hohen Alkoholdosen über 20 Tage

In der zweiten Versuchsreihe wurde Galaktosamin gleichzeitig mit 3 g Äthylalkohol pro kg Körpergewicht täglich über 20 Tage

verabreicht. Dabei ließen sich außer dem typischen Läppchenaufbau aufgelockerte Periportalfelder und geringe Rundzelleninfiltrate feststellen. Vereinzelt waren Einzelzellnekrosen und Councilmankörperchen nachzuweisen. Die Sternzellen waren aktiviert und vergrößert. Sie enthielten PAS-positives, Diastase-resistentes Material. Der einzige Unterschied zwischen den Ratten, denen nur Galaktosamin oder Galaktosamin und Alkohol verabreicht worden war, bestand in einer geringen, mitteltropfigen Verfettung der Epithelien in der Läppchenperipherie.

Bei den Tieren, die außer Galaktosamin zusätzlich höhere Alkoholdosen erhalten hatten, lagen die Mittelwerte der Aminotransferasen im Serum etwas höher als in der Kontrollgruppe, der nur Galaktosamin appliziert worden war. Die Zunahme der Serumaktivitäten war bei der Alanin-Aminotransferase stärker ausgeprägt als bei der Aspartat-Aminotransferase, ließ sich jedoch statistisch nicht sichern.

Die mittleren Enzymaktivitäten in der Leber blieben mit und ohne Alkohol etwa gleich (Tab. 12). Bei einem Vergleich der Tiere, die 2 oder 3 Wochen lang Galaktosamin und unterschiedliche Mengen an Äthylalkohol erhalten hatten, fiel die stärkere Abnahme der Enzymaktivitäten in der Leber von Tieren mit längerer Versuchsdauer auf. Da die Aktivitätsverminderung jedoch auch bei den Tieren zu beobachten war, die nur Galaktosamin erhalten hatten, dürfte diese nicht auf eine toxische Wirkung des Alkohols zurückzuführen sein, der bei längerer Versuchsdauer (20 anstelle von 13 Tagen) in höherer Dosis (3 g anstelle von 1 g/kg Körpergewicht täglich) verabreicht wurde. Die Veränderungen bei Tieren, die unter denselben Bedingungen zusätzlich einer dreitägigen Hungerperiode unterzogen worden waren sind in Tab. 12 ebenfalls aufgeführt. Die Enzymaktivitäten im Serum beider Gruppen unterscheiden sich nicht voneinander. Sie lagen in dem Bereich, der ebenfalls bei Tieren ohne Hungerbelastung beobachtet wurde. Auch bei den Enzymaktivitäten in der Leber konnten zwischen beiden Gruppen keine Unterschiede festgestellt werden. Im Vergleich mit Tieren ohne Hungerbelastung nahm die Enzymaktivität in der Leber signifikant zu. Am schwäch-

sten ausgeprägt war die Aktivitätssteigerung bei der Alanin-Aminotransferase, am stärksten bei der Serindehydratase.

Versuchsbedingungen	Aspartat-Aminotransferase (mU/mg Protein)			Aspartat-Aminotransferase (mU/ml)			Alanin-Aminotransferase (mU/mg Protein)			Alanin-Aminotransferase (mU/ml)			Serindehydratase (mU/mg Protein/Std)		
	m	SD	(n)	m	SD	(n)	m	SD	(n)	m	SD	(n)	m	SD	(n)
21 Tage lang je 300 mg Gal-N/kg KG tgl. 4 Tage lang ew-fr. Diät	158,6	± 26,5	(7)	112,8	± 35,8	(7)	31,8	± 15,8	(7)	18,9	± 7,4	(7)	0,24	± 0,08	(7)
21 Tage lang je 300 mg Gal-N/kg KG tgl. 20 Tage lang je 3 g Alk./kg KG tgl. 4 Tage lang ew-fr. Diät	172,9	± 24,5	(9)	148,1	± 83,0	(8)	30,3	± 16,5	(9)	30,0	± 13,1	(8)	0,18	± 0,09	(9)
21 Tage lang je 300 mg Gal-N/kg KG tgl. 4 Tage ew-fr. Diät + 3 Tage Hunger	382,7	± 104,4	(5)	159,5	± 53,4	(5)	55,9	± 22,4	(5)	23,9	± 19,1	(5)	4,03	± 2,93	(5)
21 Tage lang je 300 mg Gal-N/kg KG tgl. 20 Tage lang je 3 g Alk./kg KG tgl. 4 Tage ew-fr. Diät + 3 Tage Hunger	385,5	± 118,8	(8)	155,0	± 96,8	(8)	50,6	± 20,0	(8)	23,3	± 11,5	(8)	4,71	± 2,59	(8)

Tabelle 12: Veränderungen der Enzymaktivitäten in der Leber und im Serum von Ratten bei Verabreichung von Galaktosamin über 21 Tage und Äthylalkohol über 20 Tage mit und ohne Hungerperiode.

6. Diskussion der Befunde

Die nach 14-tägiger intraperitonealer Verabreichung von Galaktosamin festgestellten histologischen und biochemischen Veränderungen in der Rattenleber sind bekannten Beobachtungen über die "Galaktosaminhepatitis" an die Seite zu stellen. Nach Reutter (30) führt Galaktosamin zu Veränderungen der intrazellulären Membranstrukturen. Von Schaffner wurde auf Veränderungen in Form von Membranwandverlusten der Mitochondrien hingewiesen (34). Möglicherweise ist die Abnahme der Enzyme in der Leber als Verlust durch Membranstörungen zu erklären. Dafür spricht auch der Anstieg der Enzyme im Serum, der nach Keppler (17) schon eintritt, bevor histologische Veränderungen nachweisbar sind. Außerdem ist eine Verminderung der Enzymaktivitäten in der Leber durch eine gestörte Eiweißsynthese in Betracht zu ziehen. Nach Galaktosaminverabreichung wurde ein Abfall von Uridinphosphaten beobachtet. Da Uridintriphosphat für die RNS-Synthese essentiell ist, kann bei einer Verminderung mit einer gestörten Proteinsynthese gerechnet werden. Durch denselben Vorgang kann auch die Glukoneogenese aus Aminosäuren gestört werden.
Mit zunehmender Dauer der durch Galaktosamin erzeugten Leberschädigung ist eine Kombination von Membranschädigung und gestörter Proteinsynthese zu erwägen, da durch eine Hemmung der Proteinsynthese zusätzliche Membranschäden auftreten können. Für diese Annahme spricht, daß bei Tieren durch Vorbehandlung mit Orotsäure die Entwicklung hepatitisähnlicher Erscheinungen infolge einer Galaktosaminverabreichung unterdrückt werden kann.
Die Vorgänge, die zu der Abnahme der Enzymaktivitäten in der Leber führen, sind reversibel, denn nach Absetzen von Galaktosamin wurde eine völlige Restitution biochemischer und morphologischer Kriterien beobachtet (23).

Bei unseren Untersuchungen sind wir davon ausgegangen, daß nach 4-tägiger Diät und 3-tägigem Hungern eine signifikante Aktivitätszunahme der Aspartat-Aminotransferase, der Alanin-Aminotransferase und der Serindehydratase in der Leber stattfindet. Unsere Ergebnisse stimmen darin mit anderen Untersuchungen überein (32, 38, 39). Auch die mit Galaktosamin behandelten

Tiere zeigen eine Hungerinduktion. Es kommt aber nach Galaktosamin zu einem deutlich verminderten Anstieg der Enzymaktivitäten im Hunger im Vergleich zu Werten von Tieren, die kein Galaktosamin erhalten hatten. Die Anpassungsfähigkeit an die Hungersituation ist somit bei der "Galaktosaminhepatits" gestört, was sich auch statistisch mit Hilfe der einfachen Varianzanalyse und einem anschließenden Vergleich der Differenzen zwischen den Mittelwerten bei Ratten mit und ohne "Galaktosaminhepatitis" für die Aminotransferasenin der Leber sichern ließ. Eine statistische Aussage über die Reaktionsweise der 21 Tage lang mit Galaktosamin behandelten Tiere ist nicht möglich, da keine gleichen Varianzen der Grundkollektive vorlagen.
Es ist fraglich, ob die verminderte Anpassungsfähigkeit der mit Galaktosamin behandelten Tiere auf eine spezifisch hemmende oder toxische Wirkung des Galaktosamins und seiner Stoffwechselprodukte zurückzuführen ist.
Während einer längeren Verabreichung von Galaktosamin kommt es zu einer Anhäufung von Galaktosamin-1-Phosphat und nachfolgender Hemmung des Galaktosaminstoffwechsels in der Leber (18). Durch intrazelluläre Anhäufung von D-Galaktosamin, D-Glukosamin und ihrer phosphorylierten Derivate soll die Eiweißsynthese in Tumorgeweben und auch in normalem Gewebe gehemmt werden. Diese Störung soll durch mangelnde Energiebereitstellung und Energieübertragung zustande kommen (4).
Für einen toxischen Effekt des Galaktosamins spricht die Vermehrung des glatten endoplasmatischen Retikulums, die auf eine erhöhte Aktivität des entgiftenden mikrosomalen Enzymsystems hinweist (12). Diese Veränderungen finden sich bei allen mit Galaktosamin behandelten Tieren.
Die gestörte Hungerinduktion ließe sich auch durch vermehrten Parenchymuntergang erklären. Diese Annahme wird aber durch die histologischen Befunde nicht gestützt, da bei Tieren, die täglich Galaktosamin über 14 Tage erhalten hatten und zusätzlich drei Tage gehungert hatten, kein erheblicher Verlust von Leberparenchym zu beobachten war.
Gegen einen spezifisch hemmenden Effekt von Galaktosamin spricht, daß nach längerer Verabreichung von Galaktosamin

(über 3 anstelle von 2 Wochen) keine weitere Verminderung, sondern stärker ausgeprägte Hungerinduktion zu beobachten war.

Bis auf einen rascheren Anstieg der mittleren Enzymaktivitäten der Aspartat-Aminotransferase und der Serindehydratase im Leberhomogenat nach Absetzen des Galaktosamins läßt sich ein deutlicher Effekt von Metabolan^{R} auf die durch Galaktosamin hervorgerufene Leberentzündung nicht nachweisen. Ein die Eiweiß- und Enzymsynthese stimulierender Effekt konnte anhand der von uns bestimmten Enzymaktivitäten in der Leber nicht eindeutig gesichert werden. Auch konnten unter Metabolangaben weder eine Verminderung des Anstiegs der Serumaminotransferasen noch eine Besserung der histologischen Veränderungen der "Galaktosaminhepatitis" beobachtet werden. Vielmehr war eine verstärkte polymorphkernige entzündliche Reaktion der Leber nach gleichzeitiger Gabe von Galaktosamin und Metabolan^{R} festzustellen. Ob durch Metabolan^{R} die Ausbildung einer stärkeren Fibrosierung und eine weitere Umwandlung der Läppchenstruktur im Sinne einer Zirrhose verhindert werden kann, ließe sich nur durch langfristigere Untersuchungen möglichweise klären.

Unsere Untersuchungen liefern keine Anhaltspunkte dafür, daß Alkohol die Galaktosaminwirkung auf die Leber verstärkt, wie es z.B. von Tetrachlorkohlenstoff bekannt ist (6, 10). Die histologischen Befunde weisen unter Alkohol nur eine zusätzliche geringgradige Verfettung der Leberzellen auf. Auch liessen sich keine deutlichen Unterschiede der Mittelwerte der Aminotransferasen im Serum bei Ratten mit "Galaktosaminhepatitis" mit und ohne gleichzeitige Alkoholgaben nachweisen. Diese Feststellung gilt sowohl für eine kürzere Verabreichung von niedrigen Alkoholdosen (1 g/kg Körpergewicht über 13 Tage) als auch für eine längere Verbareichung höherer Dosen (3 g/kg Körpergewicht über 20 Tage).

Die Wirkung des Alkohols auf die Glukoneogenese wird in einer Verschiebung des NAD/$NADH_2$-Quotienten gesehen (20). Bei der Oxidation von Alkohol zu Acetaldehyd durch die Alkoholdehydrogenase wird NAD in $NADH_2$ übergeführt. Derselbe Schritt läuft bei der Oxidation von Laktat zu Pyruvat, einer wichtigen Stufe der Glukoneogenese ab. Die Reaktion der Alkoholdehydrogenase

ist energetisch günstiger als die der Laktatdehydrogenase, sodaß erstere überwiegt. Nur NAD abhängige Stufen der Glukoneogenese werden durch Alkohol gehemmt. Eine Hemmung der Glukoneogenese aus Serin und Alanin durch Alkohol wurde von Freinkel festgestellt (9). Auf Diskrepanzen zwischen den vorliegenden Befunden weist Krebs hin (20). Sieht man als eine zentrale Stoffwechselwirkung des Alkohols die Beeinflussung der NAD bzw. $NADH_2$ abhängigen Stufen der Glukoneogenese an, so wird klar, daß auf Grund unserer Versuche keine Aussagen hierzu möglich sind, da die hier untersuchten Reaktionen nicht NAD-abhängig sind. Unsere Untersuchungsbefunde zeigen nur, daß Alkohol keine Stoffwechselwirkung auf die Umwandlung der drei untersuchten Aminosäuren zu Ketosäuren hat. Dies wurde unter normalen und unter glukoneogenetsichen Bedingungen der Hungerinduktion nachgewiesen. Eine toxische Wirkung des Alkohols auf das enzymbildende System kann unter den angeführten Versuchsbedingungen ausgeschlossen werden, da bei Tieren mit "Galaktosaminhepatitis" unabhängig davon, ob diese gleichzeitig Alkohol erhalten hatten oder nicht, eine gleich starke Enzyminduktion durch eine 3-tägige Hungerperiode zu beobachten war.

7. Zusammenfassung

1) Durch tägliche intraperitoneale Verabreichung von Galaktosamin an Ratten über 14 Tage bzw. 21 Tage wurde eine sogenannte "Galaktosaminhepatitis" mit deutlichen histologischen Veränderungen und stark erhöhten Serumaktivitäten der Aminotransferasen (GOT und GPT) erzeugt.

2) In der Leber wurde bei "Galaktosaminhepatitis" eine signifikante Abnahme der Aktivitäten einiger an der Glukoneogenese beteiligter Enzyme (Aspartat-Aminotransferase, Alanin-Aminotransferase) beobachtet, während die Aktivität der Serindehydratase nicht absank.

3) Die Hungerinduktion glukoneogenetischer Enzyme (GOT, GPT, SerDH) in der Leber wurde nach 14-tägiger Gabe von Galaktosamin signifikant gehemmt.

4) Nach Absetzen des Galaktosamins bildeten sich die histologischen Veränderungen völlig zurück. Entsprechend sanken die Aktivitäten der Aminotransferasen im Serum zur Norm ab und die Aktivitäten der Aminotransferasen in der Leber stiegen bis zur Höhe der Normalwerte an. Ein stark überschießender Anstieg der Aktivität in der Leber wurde bei der Serindehydratase beobachtet.

5) Die orale Verabreichung eines Xantinol-Nicotinat-haltigen Medikamentes (Metabolan^{R}) hatte keine eindeutige Wirkung auf das Verhalten der Aminotransferasen im Serum und im Lebergewebe sowie die histologischen Veränderungen der "Galaktosaminhepatitis" von Ratten. Auch konnte keine raschere Besserung der biochemischen und histologischen Veränderungen nach Absetzen des Galaktosamins durch orale Metabolanzufuhr erzielt werden.

6) Orale Gaben von Äthylalkohol (1 g bzw. 3 g Äthanol/kg Körpergewicht über 13 bzw. 20 Tage) bewirkten keine deutlichen Veränderungen der Aminotransferasen im Serum und im Lebergewebe sowie der Serindehydratase in der Leber und der histologischen Befunde von Ratten mit "Galaktosaminhepatitis". Die Hungerinduktion glukoneogenetischer Enzyme wurde durch orale Äthanolverabreichung nicht beeinflußt.

I Statistische Auswertung der Ergebnisse für die Aspartat-Aminotransferase in der Leber von Ratten

1 = Tiere ohne Behandlung

2 = Tiere ohne Behandlung mit 3-tägiger Hungerperiode

3 = Tiere mit 14-tägiger Behandlung mit Gal-N

4 = Tiere mit 14-tägiger Behandlung mit Gal-N und 3-tägiger Hungerperiode

	1	2	3	4		
n_v	8	9	15	10	$\sum$	
$X_{v.} = \sum_{i=1}^{n_v} x_{vi}$	2 872,76	5 720,00	3 416,95	3 873,00	$N = \sum_{v=1}^{k} n_v$	42
$\bar{x}_{v.} = \frac{X_{v.}}{n_v}$	359,09	653,55	227,79	387,30	$X_{..} = \sum_v X_{v.} = \sum_v \sum_i x_{vi}$	15 882,71
$\sum_i x_{vi}^2$	1 095 374,25	3 725 086,00	813 255,15	1 534 077,00	$\bar{x}_{..} = \frac{X_{..}}{N}$	378,16
$n_v \cdot \bar{x}_{v.}^2 = \frac{X_{v.}^2}{n_v}$	1 031 593,75	3 635 377,77	778 369,36	1 500 012,90	$\sum_v \sum_i x_{vi}^2$	7 167 792,40
					$\sum_v n_v \cdot \bar{x}_{v.}^2 = \sum_v \frac{X_{v.}^2}{n_v}$	6 945 353,79
$Q_v = \sum_i (x_{vi} - \bar{x}_{v.})^2 = \sum x_{vi}^2 - \frac{X_{v.}^2}{n_v}$	63 780,49	89 708,22	34 885,79	34 064,10	$N\bar{x}_{..}^2 = \frac{X_{..}^2}{N}$	6 006 199,87
					$Q'' = \sum_v Q_v = \sum_v \sum_i (x_{vi} - \bar{x}_{v.})^2$	222 438,61
					$Q = \sum_v \sum_i (x_{vi} - \bar{x}_{..})^2 = \sum \sum x_{vi}^2 - \frac{X_{..}^2}{N}$	1 116 592,53
					$Q' = \sum_v n_v (\bar{x}_{v.} - \bar{x}_{..})^2 = \sum \frac{X_{v.}^2}{n_v} - \frac{X_{..}^2}{N}$	939 153,92

Bartlett - Test

$n_\nu - 1$	7	8	14	9	$\sum_\nu (n_\nu - 1) = N - K$	38
$s_\nu^2 = \frac{Q_\nu}{n_\nu - 1}$	9 111,49	1 1213,53	2 491, 84	3 784,90	$s''^2 = \frac{Q''}{N-K}$	5 853,65
$\frac{1}{n_\nu - 1}$	0,1428	0,1250	0,0714	0,$\overline{1}$	$\sum \frac{1}{n_\nu - 1}$	0,4392
					$\frac{1}{N-K}$	0,0263
$\log s_\nu^2$	3,69	4,05	3,39	3,58	$\log s''^2$	3,77
$(n_\nu - 1) \cdot \log s_\nu^2$	27,71	32,39	47,55	32,20	$\sum_\nu (n_\nu - 1) \cdot \log s_\nu^2$	139,86
					$(N-K) \cdot \log s''^2$	143,16

$K - 1 = 3$

$$C = 1 + \frac{1}{3(K-1)} \left\{ \sum_\nu \frac{1}{n_\nu - 1} - \frac{1}{N-K} \right\} = 1,0459$$

$$B = \frac{2,302585}{C} \left\{ (N-K) \cdot \log s''^2 - \sum_\nu (n-1) \cdot \log s_\nu^2 \right\} = 7,2626$$

$0,1 > P_{\chi^2} > 0,05$

Einfache Varianzanalyse

Schwankung	s.G.	SQ		DQ	
zwischen Abteilungen	k-1 = 3	$Q' = \sum n_{y_i} (\bar{x}_{y_i} - \bar{x}_{..})^2$	939 153,92	$s'^2 = \frac{Q'}{k-1}$	= 313 051,30
innen Abteilungen	N-k = 38	$Q'' = \sum\sum (x_{y_{ij}} - \bar{x}_{y_i})^2$	222 438,60	$s''^2 = \frac{Q''}{N-k}$	= 5 853,64
total	N-1 = 41	$Q = \sum\sum (x_{y_{ij}} - \bar{x}_{..})^2$	1 161 592,53	$s^2 = \frac{Q}{N-1}$	=

F-Test $F = \frac{s'^2}{s''^2} = 53,47$ $p < 0,001$

$H_1 : \varphi_1 = \varphi_2$ k = 4

$$t = \frac{\bar{x}_2 - \bar{x}_1}{s'' \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} = \frac{\bar{x}_2 - \bar{x}_1}{s''} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}} = 7{,}4333$$

p.G. = N - k = 38 $p_{zweis.} < 0{,}001$ $\varphi_1 < \varphi_2$

$H_2 : \varphi_3 = \varphi_4$

$$t = \frac{\bar{x}_4 - \bar{x}_3}{s'' \sqrt{\frac{1}{n_3} + \frac{1}{n_4}}} = \frac{\bar{x}_4 - \bar{x}_3}{s''} \cdot \sqrt{\frac{n_3 \cdot n_4}{n_3 + n_4}} = 5{,}1065$$

p.G. = N - k = 38 $p_{zweis.} < 0{,}001$ $\varphi_3 < \varphi_4$

$H_3 : \varphi_2 - \varphi_1 = \varphi_4 - \varphi_3$

$$t = \frac{\bar{x}_2 - \bar{x}_1 + \bar{x}_3 - \bar{x}_4}{s'' \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} + \frac{1}{n_3} + \frac{1}{n_4}}} = 2{,}4086$$

p.G. = 38 $0{,}025 > p_{zweis} > 0{,}00$

II Statistische Auswertung der Ergebnisse für die Alanin-Aminotransferase in der Leber von Ratten

1 = Tiere ohne Behandlung

2 = Tiere ohne Behandlung mit 3-tägiger Hungerperiode

3 = Tiere mit 14-tägiger Behandlung mit Galaktosamin

4 = Tiere mit 14-tägiger Behandlung mit Galaktosamin und 3-tägiger Hungerperiode

	1	2	3	4	
n_ν	8	9	15	10	Σ
$X_\nu = \sum_{j=1}^{n_\nu} x_{\nu j}$	1 008,00	2 466,00	1 125,44	924,00	$N = \sum_{\nu=1}^{k} n_\nu$ 42
$\bar{x}_{\nu\cdot} = \frac{X_\nu}{n_\nu}$	126,00	274,00	75,03	92,4	$X_{\cdot\cdot} = \sum_\nu X_{\nu\cdot} = \sum_\nu \sum_j x_{\nu j}$ 5 523,44
$\sum_j x_{\nu j}^2$	150 838,80	710 326,00	99 253,68	103 773,50	$\bar{x}_{\cdot\cdot} = \frac{X_{\cdot\cdot}}{N}$ 131,51
$n_\nu \cdot \bar{x}_{\nu\cdot}^2 = \frac{X_{\nu\cdot}^2}{n_\nu}$	127 008,00	675 684,00	84 441,01	85 377,60	$\sum_\nu \sum_j x_{\nu j}^2$ 10 641 291,98
					$\sum_\nu n_\nu \cdot \bar{x}_{\nu\cdot}^2 = \sum_\nu \frac{X_{\nu\cdot}^2}{n_\nu}$ 972 510,61
$Q_\nu = \sum_j (x_{\nu j} - \bar{x}_{\nu\cdot})^2 = \sum x_{\nu j}^2 - \frac{X_{\nu\cdot}^2}{n_\nu}$	23 830,80	34 642,00	14 812,67	18 395,30	$N \bar{x}_{\cdot\cdot}^2 = \frac{X_{\cdot\cdot}^2}{N}$ 72 639,02
					$Q' = \sum_\nu Q_\nu = \sum_\nu \sum_j (x_{\nu j} - \bar{x}_{\nu\cdot})^2$ 91 681,37
					$Q = \sum_\nu \sum_j (x_{\nu j} - \bar{x}_{\cdot\cdot})^2 = \sum \sum x_{\nu j}^2 - \frac{X_{\cdot\cdot}^2}{N}$ 9 914 901,75
					$Q'' = \sum_\nu n_\nu \cdot (\bar{x}_{\nu\cdot} - \bar{x}_{\cdot\cdot})^2 = \sum \frac{X_{\nu\cdot}^2}{n_\nu} - \frac{X_{\cdot\cdot}^2}{N}$ 246 120,39

Bartlett - Test

$n_\nu - 1$	7	8	14	9	$\sum_\nu (n_\nu - 1) = N - K$	38
$s_\nu^2 = \frac{Q_\nu}{n_\nu - 1}$	3 404,40	4 330,25	1 058,05	2 043,99	$s^{*2} = \frac{Q''}{N-K}$	2 412,67
$\frac{1}{n_\nu - 1}$	0,1429	0,1250	0,0714	0,1111	$\sum \frac{1}{n_\nu - 1}$	0,4504
					$\frac{1}{N-K}$	0,0263
$\log s_\nu^2$	3,53	3,64	3,02	3,31	$\log s^{*2}$	3,38
$(n_\nu - 1) \cdot \log s_\nu^2$	24,72	29,06	42,34	29,79	$\sum_\nu (n_\nu - 1) \cdot \log s_\nu^2$	125,92
					$(N-K) \cdot \log s^{*2}$	128,54

$K - 1 = 3$

$$C = 1 + \frac{1}{3(K-1)} \left\{ \sum_\nu \frac{1}{n_\nu - 1} - \frac{1}{N-K} \right\} = 1,0471$$

$$B = \frac{2,302585}{C} \left\{ (N-K) \cdot \log s^{*2} - \sum_\nu (n-1) \cdot \log s_\nu^2 \right\} = 5,7509$$

$0,30 > P_{\chi^2} > 0,20$

Einfache Varianzanalyse

Schwankung	F.G.	SQ	DQ
zwischen Abteilungen	$k - 1 = 3$	$Q' = \sum n_v \cdot (\bar{x}_{v.} - \bar{x}_{..})^2 = 246\,120{,}38$	$s'^2 = \frac{Q'}{k-1} = 82\,040{,}12$
binnen Abteilungen	$N - k = 38$	$Q'' = \sum\sum (x_{vj} - \bar{x}_{v.})^2 = 91\,681{,}36$	$s''^2 = \frac{Q''}{N-k} = 2\,412{,}66$
total	$N - 1 = 41$	$Q = \sum\sum (x_{vj} - \bar{x}_{..})^2 = 337\,801{,}75$	$s^2 = \frac{Q}{N-1} =$

F-Test $\quad F = \frac{s'^2}{s''^2} = 34{,}00 \qquad p < 0{,}01$

$H_1 : \varphi_1 = \varphi_2$? $k = 4$

$$t = \frac{\bar{x}_2 - \bar{x}_1}{s'' \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} = \frac{\bar{x}_2 - \bar{x}_1}{s''} \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}} = 6,2000$$

$f.G. = N - k = 38$ $n_{zweis.} < 0,001$: $\varphi_1 < \varphi_2$

$H_2 : \varphi_3 = \varphi_4$?

$$t = \frac{\bar{x}_4 - \bar{x}_3}{s'' \sqrt{\frac{1}{n_3} + \frac{1}{n_4}}} = \frac{\bar{x}_4 - \bar{x}_3}{s''} \sqrt{\frac{n_3 \cdot n_4}{n_3 + n_4}} = 0,8661$$

$f.G. = N-k = 38$ $n_{zweis.}$ $0,4 > n > 0,3$ $\varphi_3 = \varphi_4$

$H_3 : \varphi_2 - \varphi_1 = \varphi_4 - \varphi_3$?

$$t = \frac{\bar{x}_2 - \bar{x}_1 - \bar{x}_3 - \bar{x}_4}{s'' \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} + \frac{1}{n_3} + \frac{1}{n_4}}} = 4,1904$$

$f.G. = 38$ $n_{zweis.} < 0,001$

9. Literaturverzeichnis

1) Amelung D., H.-D. Horn: Die Bedeutung von Transaminasen- und Milchsäuredehydrogenase-Bestimmungen bei Lebererkrankungen
Deutsch Med W. 82, 619, 1957

2) Arias I.M.: Enzyme Induction
Clin Science Vol. 39, No 3, 7, Sept. 70

3) Ashworth C.T., F.J. Luibel, F. Sanders, N. Arnold: Hepatic Cell Degeneration. Correlation of Fine Structural with Chemical and Histochemical Changes in Hepatic Cell Injury by Carbon Tetrachloride in Rats.
Arch Pathol 75, 212-225, 1963

4) Bekesi J.G., E. Bekesi, R.T. Winzler: Inhibitory Effect of D-Glucosamine and other Sugars on the Biosynthesis of Protein, Ribonucleic Acid and Deoxyribonucleic Acid in Normal and Neoplastic Tissues
J. Biol.Chem. 244, 3766-3772, 1969

5) Christie G.S., J.D. Judah: Mechanism of Action of Carbon Tetrachloride on Liver Cells
Proc Roy Soc (London) Ser B, 907, 241-157, 25 March 1954

6) Cornish H.H., J. Adefuin: Ethanol Potentiation of Halogenated Aliphatic Solvent Toxicity
Amer Ind Hyg Ass J: 27, 57-61, Jan - Feb 1966

7) F. Deinhardt, A.W. Holmes, D.P. Capps, H. Popper, J. Exp. Med. 125, 673-688, 1 Apr. 67
Studies on the Transmission of Human Viral Hepatitis to Marmoset Monkeys. Transmission of Disease, Serial Passages and Description of Liver Lesions

8) Evans A.S.: Attempts to Transmit the Virus of Human Hepatitis to Primates other than Man
Nat.Acad.Sci.- Nat.Res.Council 322, 59, 1954

9) Freinkel N.: Alcohol Hypoglycaemia. Current Concepts on its Pathogenesis
Diab. 14, 350-361, 1965

10) Gardner H.G.: Studies on the Pathological Histology of Experimental Carbon Tetrachloride Poisoning
Bull Johns Hopkins Hosp 36 No 2, 107-133, 1925

11) Gavosto F.A. Pileri, A. Brusca: Increased Transaminase Activity in the Liver after Administration of Cortisone Biochim Biophys Acta 24, 250-254, 1957

12) Gillette J.R.: Biochemistry of Drug Oxidation and Reduction by Enzymes in Hepatic Endoplasmic Reticulum Advan Pharmacol 4, 219-261, 1966

13) Henly K.S., H.M. Pollard: A New Method for the Determination of Glutamic-Oxalacetic and Glutamic-Pyruvic Transaminase in Plasma J Lab Clin Med (S. Louis) 46, 785-789, 1955

14) Hoppe-Seyler/Thierfelder: Handbuch der Physiologisch und Pathologisch Chemischen Analyse VI, A 10. Auflage Berlin-Göttingen-Heidelberg-New York 1964

15) Karmen A., F. Wroblewski, J.S. La Due: Transaminase Activity in Human Blood J Clin Invest 34, 126-131, 1955

16) Karmen A., F. Wroblewski, J.S. La Due: A Note on Spectrophotometric Assay of Glutamic-Oxalacetic-Transaminase in Human Blood Serum J Clin Invest: 34, 131-133, 1955

17) Keppler D. Symposium zur "Galaktosaminhepatitis" Freiburg 1971 (persönliche Mitteilung Dr. H. Schmidinger)

18) Keppler D., K. Decker: Studies on the Mechanism of Galactosamine Hepatitis: Accumulation of Galactosamine-1-Phosphate and its Inhibition of UDP-Glucose-Pyrophosphorylase Europ J Biochem 10, 219-225, 1969

19) Keppler D., R. Lesch., W. Reutter: Experimental Hepatitis Induced by D-Galactosamine Exp Mol Pathol 9, 279-290, 1968

20) Krebs H., R.A. Freedland, P. Hems: Inhibition of Hepatic Gluconeogenesis by Ethanol Biochem.J(London) 112, 117-124, Mar 1969

21) La Due, J.S., F. Wroblewski, A. Karmen: Serum Glutamic-Oxalacetic Transaminase Activity in Human Acute Transmural Myocardial Infarction Science 120, 497-498, 1954

22) Lesch R., D. Keppler, W. Reutter: Entwicklung einer experimentellen Leberzirrhose durch D-Galaktosamin. Histologische, biochemische und autoradiographische Untersuchungen an Ratten. Virchow Arch (Zellpath) 6, 57-71, 1970

23) Lesch R., W. Reutter, D. Keppler: Restitution After Acute Galactosamine-Hepatitis: Autoradiographic and Biochemical Studies in Rats
Exp Mol Pathol: 12, 58-69, 1970

24) O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr u. R.J. Randall, J.Biol.Chem. 193, 265 (1953)
Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent.

25) Medline A., F. Schaffner, H. Popper: Ultrastructural Features in Galactosamine-Induced Hepatitis
Exp Mol Pathol 12, 201-211, 1970

26) Peraino C., C. Lamar, H.C. Pitot: Studies on the Mechanism of Carbohydrate Repression in Rat Liver
Adv Enz Reg 4, 199-217, 1966

27) Piazza M.: Non Human Hepatitides as Models for Study of Pathogenesis of Human Hepatitis
Riv Ist Sieroter Italiana 44, 1-25, 1969

28) Popper H.: Die chronische Hepatitis
Internist (Berlin) 7, 8-13, Jan 1966

29) Remmer H.: Der beschleunigte Abbau von Pharmaka in den Lebermikrosomen unter dem Einfluß von Luminal
Arch Exp Path u. Pharmak. 235, 279-290, 1959

30) Reutter W.: Symposium zur "Galaktosamin-Hepatitis"
Freiburg 1971 (persönliche Mitteilung Dr. H. Schmidinger)

31) Reutter W., Lesch R., D. Keppler: Galaktosamin-Hepatitis
Naturwissenschaften 55,10, 497, 1968

32) Rosen F., N.R. Roberts, C.A. Nichol: Glucocorticosteroids and Transaminase Activity. Increased Activity of Glutamic-Pyruvic Transaminase in Four Conditions Associated with Gluconeogenesis
J Biol Chem 234, 476-480, March 1959

33) Sayre F.W., D.M. Greenberg: Purification and Properties of Serin and Threonine-Dehydrases
J Biol Chem 220, 787-799, 1956

34) Schaffner, R.: Symposium zur "Galaktosamin-Hepatitis"
Freiburg 1971 (persönliche Mitteilung Dr. H. Schmidinger)

35) Schaffner F., F.M. Klion: Chronic Hepatitis
Ann Rev Med (Palo Alto) 19, 25-30, 1968

36) Schimke R.T.: Adaptive Characteristics of Urea Cycle Enzymes in the Rat
J Biol Chem 237,2, 459-468, Feb 1962

37) Schimke R.T.: Differential Effects of Fasting and Protein-Free Diets on Levels of Urea Cycle Enzymes in Rat Liver
J Biol Chem 237,6, 1921-1924, 1962

38) Schmidinger, H., H. Kröger: Zur Hunger-Induktion der Serindehydratase in der Rattenleber
Hoppe-Seylers Z 348, 1367-1371, Nov 1967

39) Schmidinger H., E. Musch, H.F. von Oldershausen: Untersuchungen über Induktion und Repression von Enzymen in der Leber
Klin Wochenschrift 47,1, 36-38, 1969

40) Söling H.D., J. Kaplan, M. Erbstoeszer: The Role of Hormones in Glucose Repression in Rat Liver
Adv Enz Reg: 7, 171-182, 1969

41) Vogel H.J.: A Common Molecular Basis for Enzyme Repression and Induction
Canad Canc Conf: 7, 133-138, 1967

42) Weber G., R.L. Singhal, S.K. Srivastava: Action of Glucocorticoid as Inducer and Insulin as Surpressor of Biosynthesis of Hepatic Gluconeogenic Enzymes
Adv Enz Reg 3, 43-75, 1965

Die experimentellen Arbeiten zu der vorliegenden Dissertation wurden von Juni 1970 bis April 1971 an der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen durchgeführt.

Dem Direktor der Klinik, Herrn Professor Dr. med. Dr. h.c. H.-E. Bock, danke ich für die Möglichkeit, die wissenschaftlichen Einrichtungen der Klinik zu benutzen.

Herrn Professor Dr. med. Dipl.-Chem. H.-F. von Oldershausen und Herrn Dr. med. H. Schmidinger danke ich für die Themastellung und die wissenschaftliche Anleitung, die ich von ihnen zur experimentellen Durchführung und Abfassung der Doktorarbeit erhalten habe. Frau B. Eisert möchte ich für ihre Unterstützung bei der Anfertigung der Tabellen danken.

Lebenslauf

Am 7. Juni 1947 wurde ich, Christa Reinecke geb. Jepe, in Reutlingen als Tocher des Dr. Fritz Jepe und seiner Ehefrau Ingeborg geb. Kürz geboren.
Im Anschluß an die Volksschule (1954-1958) besuchte ich das Friedrich-List-Gymnasium in Reutlingen, wechselte 1962 zum Uhland-Gymnasium in Tübingen über und bestand dort 1966 das Abitur.
Danach studierte ich Medizin an den Universitäten Tübingen, Kiel und Wien und legte am 1.8.1972 in Tübingen das medizinische Staatsexamen ab.
Im Oktober 1972 begann ich mit der Medizinalassistentenausbildung.
Im Juli 1973 heiratete ich den Diplom-Chemiker Dr. Hans-Jürgen Reinecke.

Druck: Polyfoto - Dr. Vogt KG
7000 Stuttgart 1, Königstrasse 51
Telefon (0711) 29 56 81/ 29 10 63

Druck: Polyfoto - Dr. Vogt KG
7000 Stuttgart 1, Königstrasse 51
Telefon (0711) 29 56 81/ 29 10 63